Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München
Vorstand: Professor Dr. W. Straub

Das Schicksal der Sennastoffe im Organismus.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

verfaßt und einer

Hohen Medizinischen Fakultät

der Bayerischen Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Dr. Ing. Heinrich Gebhardt

Kulmbach

München 1938

Rudolph Müller & Steinicke, München

Gedruckt mit Genehmigung
der
Medizinischen Fakultät der Universität München

Referent: Professor Dr. Walter Straub.

Tag der mündlichen Prüfung: 7. November 1938

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Aus Naunyn-Schmiedebergs Archiv 182. Band. S. 521–526.
Berlin, Verlag von F. C. Vogel, 1936

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Das Schicksal der Sennastoffe im Organismus.

Von H. Gebhardt.

Es ist die Frage, ob die Abführwirkung der Sennastoffe von dem ganzen Glykosid oder durch dessen Spaltprodukte bedingt ist. Infolgedessen war es notwendig, das Schicksal der Sennastoffe, insbesondere des schwerspaltbaren Glykosidkomplexes systematisch nach Zeit und Quantität an der Ausscheidung von Sennastoffen zu verfolgen. Ueber diese rein analytisch-chemische Untersuchungsreihe wird im folgenden berichtet.

Methode.

Der Fragestellung entsprechend mußte der Harn quantitativ auf unverändertes Glykosid, auf freies Anthranol und Emodin geprüft werden. Zu diesem Zwecke wurde der neutrale Harn zunächst erschöpfend ausgeäthert, wodurch Anthranol und Anthrachinon entfernt wird. In orientierenden Versuchen hat sich gezeigt, daß das Anthranol und Anthrachinon nicht frei, sondern als Schwefelsäurepaarling in den Harn übergeht. Die analytische Trennung von Emodin aus Glykosid und solchem aus Schwefelsäurepaarling ist dadurch möglich, daß schon $^1/_2$%ige Ansäuerung mit HCl in der Kälte diesen letzteren quantitativ spaltet, ohne das Glykosid anzugreifen, das quantitativ bei zweistündigem Kochen mit 10%iger HCl zerfällt. Diese Emodin-Schwefelsäurepaarlinge sind also noch wesentlich labiler als die gewöhnlichen Phenolschwefelsäurepaarlinge, die nach Salkowski erst mit 1,8%iger HCl in der Wärme gespalten werden.

Neben dem Schwefelsäurepaarling tritt im Harn auch eine Paarung mit Glykuronsäure auf. Sie ist dadurch nachweisbar, daß die Spaltung dieser Fraktion mit 5%iger HCl die Glykuronsäurereaktion nach Tollens[1], modifiziert nach Neuberg und Saneyoshi[2], qualitativ positiv gibt. Da der Abstand der Spaltungssäuregrade des Glykuronsäurepaarlings und des Glykosids nicht mehr sehr weit ist, kann der Glykuronsäurepaarling bei Anwesenheit von Glykosid nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden.

Versuche.

1. Bei der innerlichen Einverleibung des schwerspaltbaren Glykosids, das sicher frei von Emodin und leichtspaltbarem Glykosid

[1] Tollens, B.: Ueber einen einfachen Nachweis der Glykuronsäure mittels Naphthoresorcin, Salzsäure und Aether. Ber. **41**, 1788—1790 (1908). — [2] Mandel, J. A. u. C. Neuberg: Biochem Z. **13**, 148 (1908).

war, läßt sich im Harn im Laufe von 12 Stunden die Anwesenheit von ungespaltenem Glykosid sowie des eingangs erwähnten Paarlings nachweisen.

Katze. In den Magen Rohglykosid gegeben mit einem Emodingehalt von 67 mg Emodin. Im Harn von 12 Stunden, p_H: 6,1, war:

Freies Emodin	Emodin durch Stehenlassen des Harns mit 1 Proz. HCl-Gehalt während 24 Std. in mg	Emodin durch Kochen des Harns mit 5 Proz. HCl-Gehalt während 2 Std. in mg
Spuren	0,93	2,55

d. h. Schwefelsäurepaarling . . . . . 1.4 %
Glykuronsäurepaarling oder unverändertes Glykosid . . 3,8 %

2. Bei intravenöser Infusion des schwerspaltbaren Glykosids in Form des Rohglykosids läßt sich im Harn im Laufe von 12 Stunden die Anwesenheit von ungespaltenem Glykosid sowie des Schwefelsäurepaarlings nachweisen. Diese Art der Beibringung wurde gewählt, da andere Versuche ergeben haben, daß das Sennaglykosid auf dem Blutwege zum Orte seiner Wirkung, zum Dickdarm gelangt. Die Versuchstiere: Katzen, wurden mit Chloralose/Urethan narkotisiert, mit einem Verweilkatheder in der Blase, der Harn portionsweise abgefangen und analysiert; die Infusion erfolgte mit Hilfe einer durch einen Motor getriebenen Spritze in die Vena jugularis. Die Infusionsdauer bewegte sich zwischen 4 und 5 Stunden; diese Langsamkeit der Infusion erlaubt es, die Verhältnisse als physiologisch und zeitlich den Resorptionsumständen vom Darm aus äquivalenten zu betrachten.

Versuch vom 12. Dezember 1935.

1,0 g Rohglykosid = 95 mg Aloe-Emodin in Paarung mit Zucker in 100 ccm Aqua dest. einer Katze als intravenöse Dauerinfusion gegeben. Prüfung des Urins auf freies Emodin, Schwefelsäurepaarling, Glykosidemodin. Nach Versetzen mit HCl bis zu einem Gehalt von 1 % resultierte im Harn in der

1. Stunde	. . . . .	0,26 mg
2. „	. . . . .	0,60 „
3. „	. . . . .	0,64 „
4. „	. . . . .	0,40 „
5. „	. . . . .	0.24 „
6. „	. . . . .	0,14 „
7. „	. . . . .	—
8. „	. . . . .	Spuren
am 2. Tage	. . . . .	—

insgesamt 2.28 mg Aloe-Emodin

als Aloe-Emodin-Schwefelsäurepaarling = 2,4 % des Emodingehalts im Ausgangsmaterial.

Ausgeschiedenes Glykosid, bestimmt als Emodin nach Verkochen des Harns in 10 % HCl:

1. Stunde	. . . . .	2,4 mg
2. „	. . . . .	3,3 „
3. „	. . . . .	5,28 „
4. „	. . . . .	4,8 „
5. „	. . . . .	2,64 „
6. „	. . . . .	1,20 „
7. „	. . . . .	0,91 „
8. „	. . . . .	0,96 „
am 2. Tage	. . . . .	Spuren

insgesamt 21,40 mg Emodin

aus schwerspaltbarem Glykosid = 22,5 % des Emodingehalts des Ausgangsmaterials im Harn ausgeschieden.

Ergebnis.

Der größte Teil, nämlich 75,5 %, zugeführten Glykosids verschwindet im Organismus; als unverändertes Glykosid wird ausgeschieden 22,5 %, als Schwefelsäurepaarling 2,4 %.

Drei weitere Versuche der gleichen Anordnung ergaben grundsätzlich das gleiche Resultat, insbesondere das gleiche Verhältnis der ausgeschiedenen Stoffe, auch wenn die Infusion nicht wie bei dem mitgeteilten Versuch mit dest. Wasser, sondern mit 1 %iger Sodalösung vorgenommen wurde, wodurch der Harn eine endliche Reaktion von *p*H 7,9—8,0 erhielt.

Die Untersuchung des Schwefelsäurepaarlings ergab, daß sowohl Anthrachinon- als auch Anthranolschwefelsäure ausgeschieden werden.

Zur Trennung von Anthrachinon und Anthranol wurde die Tatsache benutzt, daß das Anthrachinon von dem Anthranol durch die Farbreaktion zu trennen ist. Die salzsaure Anthrachinon-Aetherausschüttelung geht in wässrig-alkalische Lösung mit roter Farbe, die salzsaure Anthranol-Aetherausschüttelung geht hellgelb in Alkali und oxydiert sich langsam zum roten Farbstoff der Chinonverbindung. Diese Umwandlung wurde beschleunigt durch Zusatz des Fermentes Emulsin, das durch seinen Oxydasengehalt die Aufoxydation des Anthranols zum Anthrachinon bewerkstelligt. Es ist eine Frage für sich, warum die Oxydation des Senna-Anthranols so langsam verläuft.

3. Die intravenöse Infusion von Emodin in 1%iger Soda an der Katze während 120 Minuten.

Versuch vom 28. November 1935.

Die Katze erhielt durch intravenöse Dauerinfusion 50 mg Emodin in 1%iger Sodalösung. Zunächst wurde das freie Emodin des Harns bestimmt, dann der Harn auf 5% HCl gebracht, 1 Stunde gekocht und das resultierende Emodin bestimmt.

	Harn in ccm	Freies Emodin in mg	Emodin nach Kochen mit 5 Proz. HCl-Gehalt des Harns in mg
In der 1. Std. . .	60	Spuren	0,62
„ „ 2. „ . .	80	0,56	2,40
„ „ 3. „ . .	50	0,32	0,76
„ „ 4. „ . .	25	0,28	0,98
„ „ 5. „ . .	5	Spuren	0,44
„ „ 6. „ . .	5	„	0,44
„ „ 7. „ . .	5	—	0,24
„ „ 8. „ . .	2	—	0,22
	232	1,26	6,10

In gleicher Weise verlief ein zweiter Versuch; das Resultat ist also: daß ein Teil des infundierten Emodins eine Paarung erfährt und freies Emodin nur zu recht unbeträchtlichen Anteilen ausgeschieden wird.

In den vorigen Versuchen wurde auf die Differenzierung der beiden Paarungen mit Schwefelsäure und Glykuronsäure nicht geachtet. Im folgenden Versuch ist dies erzielt in der Weise, daß der Harn zunächst mit 1 % HCl in der Kälte, dann mit 5 % HCl in der Wärme gespalten wird.

Gang des Versuchs:

Zunächst wurden 24 ccm Tyrodelösung im Lauf von 120 Minuten infundiert und der Harn auf Anwesenheit von Aetherschwefelsäuren und Glykuronsäurepaarlingen untersucht. Aetherschwefelsäuren sind enthalten, dagegen keine Glykuronsäurepaarlinge.

		Freies Emodin in mg	Emodin nach Spaltung des Harns mit 1 Proz. HCl-Gehalt in mg	Emodin nach Spaltung des Harns mit 5 Proz. HCl-Gehalt kochend in mg
Infusion von 41 ccm Aloe-Emodinlösung = 24.6 mg Emodin in 187 Min. .	74 ccm Harn, p_H 0,8	—	1,40	1,10
Infusion von weiteren 46 ccm Emodinlösung = 27 mg Aloe-Emodin in 126 Min.	45 ccm Harn, p_H 7,9	0,1-0,2	1,85	0,80
Injektion v. Tyrodelösung in weiteren 300 Min,	65 ccm Harn, p_H 7,8	—	0,82	0,50
In weiteren 660 Min. .	15 ccm Harn, p_H —	—	0,25	—
	199 ccm Harn	0,1—0,2	4,32	2,40

Die Ausscheidungsgrößen des Emodins liegen prozentual wie in den vorhergehenden Versuchen, das Verhältnis von Schwefelsäure- zu Glykuronsäure-Emodin ist 2:1.

Es erschien noch wünschenswert, den Nachweis des Glykuronsäurepaarlings durch Identifizierung des Spaltungsproduktes als Glykuronsäure zu erbringen. Zu diesem Zweck erhielt eine Katze (Versuch vom 24. 6. 36) in 243 Minuten 88 ccm Emodinlösung in 1%iger Soda = 52,8 mg Emodin intravenös infundiert. Der Harn wurde nach Ansäuern durch Schwefelsäure mit einem Alkohol-Aethergemisch ausgeschüttelt, wodurch der Glykuronsäurepaarling

in den Alkohol-Aether aufgenommen wird. Dieser Alkohol-Aetherauszug nach Tollens verarbeitet, gab die positive Glykuronsäurereaktion. (Vorurin war frei von Glykuronsäure.)

4. Ausscheidung des Emodins bei einmaliger innerlicher Einverleibung:

Die Versuchsperson bekam 300 mg Emodin in 300 ccm 3%-iger Sodalösung, einen Emodinwert, der ungefähr dem Emodingehalt von 30 g Folia Sennae entspricht. (1 Stunde nach der Einverleibung starker Durchfall).

Der untersuchte Harn lieferte:

Freies Emodin in mg	Emodin durch Stehenlassen des Harns mit 1 Proz. HCl-Gehalt während 24 Std. in mg	Emodin durch Kochen des Harns mit 5 Proz. HCl-Gehalt während 2 Std. in mg	Emodin durch Kochen des Harns mit 10 Proz. HCl-Gehalt in mg
3,5	127,9	72,4	—

An der Versuchsperson wurde ein zweiter Versuch durchgeführt mit einer kleineren Emodinmenge von 100 mg Aloe-Emodin in 1%iger Soda gelöst, innerlich genommen; keine Durchfallwirkung.

Im Urin von 24 Stunden, 1100 ccm, p_H 6,0, wurden das freie Emodin und die beiden Paarlinge bestimmt.

Freies Emodin in mg	Emodin durch Stehenlassen des Harns mit 1 Proz. HCl-Gehalt während 24 Std. in mg	Emodin durch Kochen des Harns mit 5 Proz. HCl-Gehalt während 2 Std. in mg.
3,5	23,0	14,0

5. Ausscheidung in den Dickdarm bei Einverleibung in den Dünndarm. Die Messung der Ausscheidung von Emodin usw. durch den Harn macht das Verschwinden der Substanzen im intermediären Stoffwechsel wahrscheinlich. Zur Klärung wurde aber noch die Ausscheidung durch den Dickdarm nach Einverleibung einer sicher wirksamen Dosis Reinglykosid in den Dünndarm verfolgt.

Versuch. Katze in Chloralose/Urethannarkose wird nach Injektion von Reinglykosidlösung in den Dünndarm nach der Anord-

nung von Straub und Triendl[3] operiert, d. h. ein großes Stück Dickdarm wird mit Brunnenwasser durchspült, Entleerung durch die eigene Peristaltik. Im Laufe von 8 Stunden sind 1312 ccm durch den Dickdarm geflossen. Die Sennawirkung als Peristaltiksteigerung setzte nach $6^1/_2$ Stunden ein und blieb für den Rest der Versuchsdauer bestehen.

In den Dünndarm wurde Reinglykosid mit einem Emodinwert von 30 mg gebracht.

Es wurden nach Beendigung des Versuchs gefunden:

1. In der durch den Dickdarm geförderten Flüssigkeit: 0,07 mg Emodin als Glykosid.
2. In der Dickdarmschleimhaut: 0,26 mg Emodin als Glykosid.
3. Im Harn:

Freies Emodin in mg	Emodin durch Stehenlassen des Harns mit 1 Proz. HCl-Gehalt während 24 Std. in mg	Emodin durch Kochen des Harns mit 5 Proz. HCl-Gehalt während 2 Std. in mg
0,18	1,92	2.64

Zusammenfassung:

1. Bei innerlicher Einverleibung von Sennaglykosid erscheint sowohl Glykosid wie Emodinpaarling im Harn.
2. Bei intravenöser Dauerinfusion an der Katze erscheint der Sennakörper zum größten Teil als ungespaltenes Glykosid, ein kleiner Teil wird als Emodinpaarling ausgeschieden.
3. Bei intravenöser Dauerinfusion von Emodin tritt Emodin spurenweise frei, zum größten Teil aber gepaart im Harn auf. Die Paarungssäuren sind Schwefelsäure und Glykuronsäure.
4. Am Menschen treten bei innerlicher Einverleibung von Emodin ebenfalls wenig freies und hauptsächlich gepaartes Emodin auf.
5. Teilweise wird das Emodin bei innerlicher Einverleibung am Menschen zum Anthranol reduziert, sowohl frei wie gepaart ausgeschieden.
6. Ein Großteil des einverleibten Emodins verschwindet im Stoffwechsel.

[3] Im Druck.

Lebenslauf.

Ich bin am 18. 1. 1905 in Kulmbach als Sohn des Lehrers Christoph Gebhardt und seiner Ehefrau Elise geboren, besuchte die Volkschule meiner Heimatstadt und war von 1914 bis 1920 in der Realschule Kulmbach. Die Mittelschulschlußprüfung bestand ich an der Kreisoberrealschule Bayreuth im Frühjahr 1923. Von 1923 bis 1928 studierte ich Chemie an der Technischen Hochschule zu München und schloß dieses Studium mit dem Diplomingenieurexamen ab. Während meiner chemischen Doktorarbeit am Organisch-chemischen Institut der Technischen Hochschule München habe ich mich auf das medizinische Vorexamen vorbereitet. Im November 1931 promovierte ich zum Dr. Ing. und bestand im Herbst 1933 die Medizinische Staatsprüfung. Seit Juli 1934 arbeite ich am Pharmakologischen Institut der Universität München und wurde dort am 1. 4. 1935 Assistent.